

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2026.02.001

✧基础医学研究✧

维生素 D 调节自噬活性和 FXR/FGF15 信号通路改善大鼠 2 型糖尿病肾脏功能的作用机制

赵月萍¹, 刘明², 张奇², 张瑞²

(成都市中西医结合医院, 1. 内分泌科; 2 医养结合科, 四川 成都 610017)

【摘要】目的: 探究维生素 D 调节自噬活性和 FXR/FGF15 信号通路改善大鼠 2 型糖尿病的作用机制。**方法:** 选取 40 只 SPF 级 SD 大鼠, 其中 10 只大鼠作为对照组, 30 只构建 2 型糖尿病模型。将建模成功的 27 只大鼠分为模型组、维生素 D 组、维生素 D+FXR 抑制剂组, 每组各 9 只。比较各组大鼠肾组织病理组织学变化、空腹血糖、胰岛素、体质量、肾功能、炎症因子水平、自噬相关蛋白、FXR/FGF15 通路 mRNA 及蛋白表达水平。**结果:** 对照组大鼠肾组织结构正常; 模型组大鼠肾小球肥大、系膜细胞增生, 肾小管上皮细胞肿胀变性且部分萎缩; 维生素 D 组大鼠肾病理损伤减轻, 而维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠损伤较维生素 D 组加重, 程度介于模型组与维生素 D 组之间。与对照组相比, 模型组大鼠空腹血糖、肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、P62 蛋白表达升高; 胰岛素、体质量、溶酶体相关膜蛋白 1(LAMP1)、LC3-II/I 蛋白、法尼醇 X 受体(FXR)、成纤维细胞生长因子 15(FGF15)mRNA、蛋白表达水平降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组相比, 维生素 D 组大鼠空腹血糖、Scr、BUN、MCP-1、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、P62 蛋白表达降低, 胰岛素、体质量、LAMP1、LC3-II/I 蛋白、FXR、FGF15 mRNA、蛋白表达水平升高($P < 0.05$)。与维生素 D 组相比, 维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠空腹血糖、Scr、BUN、MCP-1、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、P62 蛋白表达升高; 胰岛素、体质量、LAMP1、LC3-II/I 蛋白、FXR、FGF15 mRNA、蛋白表达水平降低, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** 维生素 D 可改善肾功能, 作用机制可能与调节自噬活性和 FXR/FGF15 通路有关。

【关键词】 2 型糖尿病; 维生素 D; 法尼醇 X 受体/成纤维细胞生长因子; 自噬活性; 肾脏功能

【中图分类号】 R285.5 **【文献标志码】** A

The mechanism of vitamin D regulating autophagy activity and FXR/FGF15 signaling pathway improving type 2 diabetes in rats

ZHAO Yue-ping¹, LIU Ming², ZHANG Qi², ZHANG Rui²

(1. Department of Endocrinology; 2. Department of Medical and Elderly Care Integration, Chengdu Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Chengdu 610017, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To explore the mechanism of action of vitamin D in regulating autophagy activity and improving type 2 diabetes in rats through the FXR/FGF15 signaling pathway. **Methods:** 40 SPF-grade SD rats were selected. Among them, 10 rats were set as the control group, and 30 were used to establish the type 2 diabetes model. The 27 successfully modeled rats were divided into a model group, a vitamin D group, and a vitamin D+FXR inhibitor group, with 9 rats in each group. The histopathological changes in renal tissue, fasting blood glucose, insulin, body weight, renal function, inflammatory factor levels, autophagy-related proteins, and mRNA and protein expression levels of the FXR/FGF15 pathway in rats from each group were compared. **Results:** The renal tissue structure of rats in the control group was normal. In the model group, the rats exhibited glomerular hypertrophy, mesangial cell proliferation, and swelling, degeneration, and partial atrophy of renal tubular epithelial cells. The renal pathological damage in the vitamin D group was alleviated, while the damage in the vitamin D +FXR inhibitor group was more severe than that in the vitamin D group, with a degree between that of the model group and the vitamin D group. Compared with the control group, the model group rats exhibited elevated fasting blood glucose, creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and P62 protein expression. The mRNA and protein expression levels of insulin, body mass, lysosomal-associated membrane protein 1 (LAMP1), LC3-II/I protein, farnesoid X receptor (FXR), and fibroblast growth

基金项目: 四川省科技计划项目(2022YFS0165)

作者简介: 赵月萍(1979-), 女, 硕士, 主治医师。E-mail: zhaoyueping0727@163.com

通讯作者: 张瑞。E-mail: 313807249@qq.com

factor 15 (FGF15) decreased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). Compared with the model group, the vitamin D group exhibited reduced fasting blood glucose, Scr, BUN, MCP-1, IL-6, IL-1 β , TNF- α , and P62 protein expression, while insulin, body weight, LAMP1, LC3-II/I protein, FXR, FGF15 mRNA, and protein expression levels were increased ($P < 0.05$). Compared with the vitamin D group, the rats in the vitamin D + FXR inhibitor group exhibited increased fasting blood glucose, Scr, BUN, MCP-1, IL-6, IL-1 β , TNF- α , and P62 protein expression, decreased insulin, body weight, LAMP1, LC3-II/I protein, FXR, FGF15 mRNA, and protein expression levels, with statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion:** Vitamin D can improve renal function, and its mechanism of action may be related to regulating autophagy activity and the FXR/FGF15 pathway.

【Key words】 Type 2 diabetes; Vitamin D; Farnesate X receptor/fibroblast growth factor; Autophagy activity; Renal function

2 型糖尿病是一种常见的代谢性疾病, 发病率呈逐年上升趋势, 且发病机制复杂, 涉及胰岛素抵抗、胰岛 β 细胞功能障碍等多种因素^[1]。维生素 D 作为一种脂溶性维生素, 其与糖尿病存在密切联系。流行病学研究^[2]表明, 维生素 D 缺乏人群患 2 型糖尿病的风险增加。维生素 D 可通过多种途径影响糖代谢, 如调节胰岛素分泌、改善胰岛素敏感性等。此外, 维生素 D 还具有抗炎、抗氧化等作用, 可能对 2 型糖尿病的并发症产生影响^[3]。法尼醇 X 受体 (FXR) 及其下游因子成纤维细胞生长因子 15 (FGF15) 构成的 FXR/FGF15 信号通路在脂质代谢、胆汁酸稳态等方面发挥重要作用, 且与糖尿病的发生发展相关^[4]。自噬是细胞内一种重要的稳态维持机制, 在 2 型糖尿病中, 自噬活性的改变影响细胞功能^[5]。但维生素 D 是否通过调节自噬活性及 FXR/FGF15 信号通路来改善 2 型糖尿病尚不清楚。本研究旨在明确维生素 D 对 2 型糖尿病大鼠肾脏功能的改善作用, 并探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF 级 40 只 SD 雄性大鼠 [(7 周龄, 225 ~ 300 g) 购自四川维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SYXK(川)2023-0263]。大鼠在室温 25 $^{\circ}\text{C}$ 下饲养, 12 h/d 明暗循环, 自由饮水。本研究所有动物实验均经动物伦理委员会审核批准。主要试剂有: 维生素 D (青岛双鲸药业股份有限公司); FXR 抑制剂 (温州科森生物科技有限公司, 批号: BMS-309403); 检测单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1)、白细胞介素 6 (IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 水平的 ELISA 试剂盒 (武汉金开瑞生物工程有限公司, 货号: EK-R37092、EM004、EM001、CSB-E11987r); 兔抗 FXR、FGF15 抗体 (上海江莱生物科技有限公司, 货号: PAB02460、CSB-PA522052LB01MO)。主要仪器有: 离心机 (安徽中科都菱商用电器股份有限公司; 型号: DL-1032); 显微镜 (英国工业显微镜有限公司上海代表处; 型号: EVO Cam II); 血糖仪 (上海玉研科学仪器有限公司; 型号:

CE0088); 酶标仪 (赛默飞世尔科技; 型号: MultiskanTM FC); 实时荧光定量 PCR 仪 (武汉金开瑞生物工程有限公司; 型号: Gentier X3)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与建模 选取 10 只大鼠作为对照组, 30 只构建 2 型糖尿病模型^[6], 给予大鼠高糖、高脂饲料喂养。高糖、高脂饲料配方为基础饲料 66%、蔗糖 20%、猪油 10%、胆固醇 2%、胆酸钠 0.5%、丙基硫氧嘧啶 0.2%、其他添加剂 1.3%。4 周后, 大鼠进食 12 h, 在腹腔注射 1% STZ (30 mg/kg); 72 h 后, 大鼠禁食 8 h, 检测空腹血糖值。空腹血糖 > 11.1 mmol/L, 且出现多尿、多饮、多食即为建模成功。将建模成功的 27 只大鼠分为模型组、维生素 D 组、维生素 D + FXR 抑制剂组, 每组各 9 只。

1.2.2 药物干预 对照组及模型组大鼠均采用 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 生理盐水灌胃、维生素 D 组大鼠采用 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 维生素 D 灌胃; 维生素 D + FXR 抑制剂组大鼠采用 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 维生素 D + 47 mg/kg FXR 抑制剂灌胃, 均连续给药 4 周。

1.3 观察指标

(1) 病理组织学: 将大鼠断颈处死, 取大鼠肾组织, 固定于 4% 多聚甲醛 24 h, 进行脱水、透明、浸蜡处理, 包埋后, 制作切片, 厚度为 5 μm , 后进行 HE 染色, 采用光学显微镜观察。(2) 空腹血糖、胰岛素水平及体质量: 实验结束前禁食 12 h, 以确保检测的是空腹状态下的血糖, 排除进食对血糖的干扰, 尾尖取血检测空腹血糖; 眼眶取血, 分离血清, 血糖仪检测空腹血糖水平; 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血清胰岛素水平 (采集大鼠腹主动脉的血液, 3 000 r/min 离心 15 min 分离血清, 按照 ELISA 试剂盒操作流程进行)。最后通过酶标仪在特定波长下测定吸光度值, 根据标准曲线计算胰岛素浓度; 1 次/周称量大鼠体质量。(3) 肾功能: 大鼠处死前, 取大鼠空腹静脉血, 静置 30 min, 待血液凝固后, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 分离出血清。采用肾功能检测试剂盒 (上海一研生物科技有限公司; 批号: EY-R97020) 及贝克曼 AU5800 型生化分析仪检查

肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)。(4)炎症因子水平:取大鼠空腹静脉血,离心分离血清后,采用 ELISA 法检测血清中 MCP-1、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平。(5)自噬相关蛋白、FXR/FGF15 蛋白表达水平:采用 Western blot 法检测,同时采用免疫荧光法验证自噬相关蛋白表达(具体操作:肾组织切片脱蜡至水,抗原修复后封闭,加入 P62、溶酶体相关膜蛋白 1(LAMP1)、LC3-II 一抗孵育过夜,荧光二抗孵育,DAPI 染核,荧光显微镜观察并定量分析)。取大鼠肾组织,加入 RIPA 裂解液进行匀浆,离心处理取上层清液,采用 BCA 法检测蛋白浓度,加入蛋白缓冲液,变性 15 min 后,进行电泳处理,加入 5% 脱脂奶粉,4 $^{\circ}\text{C}$ 封闭处理 1.5 h,加入 P62、LAMP1、LC3-II / I、FXR、FGF15 一抗,过夜处理,洗膜后,将二抗加入,30 min 后洗膜,使用 ECL 显影,对灰度值计算,分析蛋白表达。(6)FXR/FGF15 通路 mRNA 表达水平:取大鼠肾组织,提取总 RNA,对纯度、浓度测定,进行逆转录处理,进行 RT-PCR 测定,反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s、95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s、60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s、68 $^{\circ}\text{C}$ 60 s,共进行 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法计算出 FXR、FGF15 表达水平。引物序列见表 1。

1.4 统计学分析

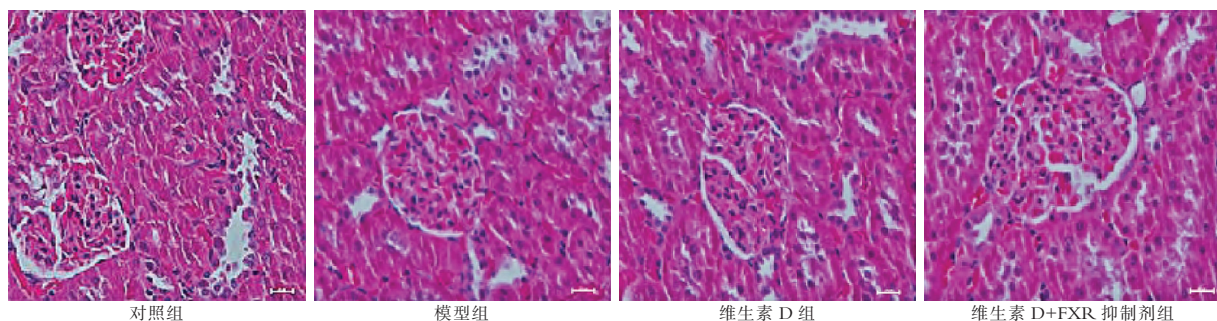


图 1 各组大鼠肾组织病理学特征(HE \times 200)

2.2 各组大鼠空腹血糖、胰岛素水平及体质量比较

各组大鼠空腹血糖升高、胰岛素、体质量比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组大鼠空腹血糖升高,胰岛素、体质量降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,维生素 D 组大鼠空腹血糖降低,胰岛素、体质量升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与维生素 D 组比较,维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠空腹血糖升高;胰岛素、体质量降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2 及图 2。

2.3 各组大鼠肾功能比较

各组大鼠 Scr、BUN 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组大鼠 Scr、

采用 SPSS19.0 软件对数据进行处理与分析。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较行单因素方差分析,多个均数两两比较行 SNK 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 引物序列

引物	引物序列(5'-3')
FXR-F	5'-CAGAAATGGCAACCAGTCATGTA-3'
FXR-R	5'-AAATCTCCGCCGAACGAA-3'
FGF15-F	5'-ATGGCGAGAAAGTGGAAACGG-3'
FGF15-R	5'-CTGACACAGACTGGGATTGCT-3'
GAPDH-F	5'-TGTGTCCGTCGTGGATCTGA-3'
GAPDH-R	5'-TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG-3'

2 结果

2.1 各组大鼠病理学特征比较

对照组大鼠肾组织结构正常,肾小球、肾小管形态规则,无明显病理改变。模型组大鼠肾组织可见肾小球肥大,系膜细胞增生,肾小管上皮细胞肿胀、空泡变性,部分肾小管萎缩;维生素 D 组大鼠肾组织病理损伤较模型组减轻,肾小球、肾小管形态基本正常。维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠肾组织病理损伤较维生素 D 组有所加重,肾小球系膜细胞增生及肾小管上皮细胞损伤程度介于模型组与维生素 D 组之间。见图 1。

BUN 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,维生素 D 组大鼠 Scr、BUN 水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与维生素 D 组比较,维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠 Scr、BUN 升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3 及图 3。

2.4 各组大鼠炎症因子水平比较

各组大鼠 MCP-1、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与对照组比较,模型组大鼠 MCP-1、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,维生素 D 组大鼠 MCP-1、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与维生素 D 组比较,维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠 MCP-1、IL-6、IL-1 β 、

TNF- α 水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4 及图 4。

2.5 各组大鼠自噬相关蛋白表达水平比较

各组大鼠 P62、LAMP1、LC3-II / I 蛋白表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 模型组大鼠 P62 蛋白表达水平升高, LAMP1、LC3-II / I 蛋白表达水平降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 维生素 D 组大鼠 P62 蛋白表达水平降低, LAMP1、LC3-II / I 蛋白表达水平升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与维生素 D 组比较, 维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠 P62 蛋白表达水平升高, LAMP1、LC3-II / I 蛋白表达水平降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 5 及图 5。

表 2 各组大鼠空腹血糖、胰岛素水平及体质量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	空腹血糖 (mmol/L)	胰岛素 (mIU/L)	体质量 (g)
对照组 ($n=10$)	5.41 \pm 0.63	15.62 \pm 1.82	502.36 \pm 42.77
模型组 ($n=9$)	16.24 \pm 2.77 ^①	6.24 \pm 0.82 ^①	327.56 \pm 34.36 ^①
维生素 D 组 ($n=9$)	8.55 \pm 0.92 ^{①②}	11.54 \pm 1.22 ^{①②}	447.74 \pm 53.14 ^{①②}
维生素 D+FXR 抑制剂组 ($n=9$)	12.43 \pm 2.25 ^{①②③}	8.57 \pm 1.06 ^{①②③}	381.88 \pm 49.45 ^{①②③}
F 值	57.442	92.072	14.670
P 值	<0.05	<0.05	<0.05

① $P < 0.05$, 与对照组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较; ③ $P < 0.05$, 与维生素 D 组比较。

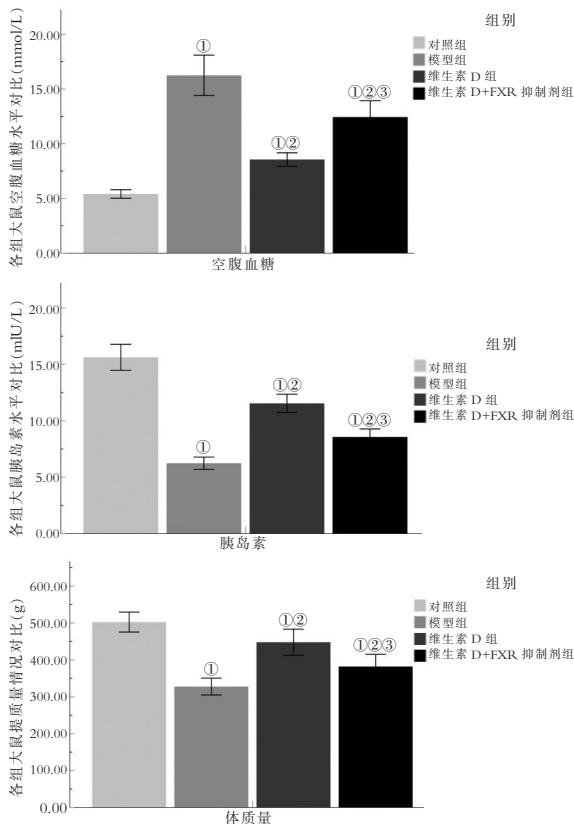


图 2 各组大鼠空腹血糖、胰岛素水平及体质量比较

① $P < 0.05$, 与对照组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较; ③ $P < 0.05$, 与维生素 D 组比较。

表 3 各组大鼠肾功能比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Scr (μ mol/L)	BUN (mmol/L)
对照组 ($n=10$)	30.42 \pm 3.16	6.04 \pm 1.51
模型组 ($n=9$)	65.74 \pm 5.44 ^①	12.07 \pm 2.16 ^①
维生素 D 组 ($n=9$)	45.16 \pm 4.22 ^{①②}	8.55 \pm 1.87 ^{①②}
维生素 D+FXR 抑制剂组 ($n=9$)	55.28 \pm 4.18 ^{①②③}	10.06 \pm 2.93 ^{①②③}
F 值	116.946	13.071
P 值	<0.05	<0.05

① $P < 0.05$, 与对照组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较; ③ $P < 0.05$, 与维生素 D 组比较。

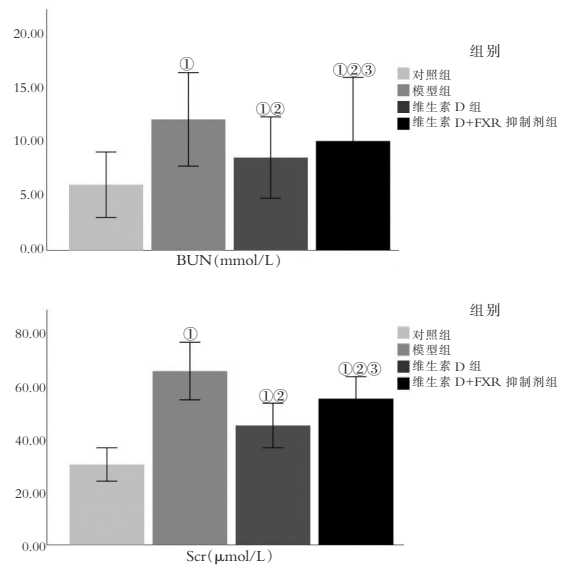


图 3 各组大鼠肾功能比较

① $P < 0.05$, 与对照组比较; ② $P < 0.05$, 与模型组比较; ③ $P < 0.05$, 与维生素 D 组比较。

2.6 各组大鼠 FXR/FGF15 mRNA 表达水平比较

各组大鼠 FXR/FGF15 mRNA 表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 模型组大鼠 FXR、FGF15 mRNA 表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 维生素 D 组 FXR、FGF15 mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与维生素 D 组比较, 维生素 D+FXR 抑制剂组 FXR、FGF15 mRNA 表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 6 及图 6。

2.7 各组大鼠 FXR/FGF15 蛋白表达水平比较

各组大鼠 FXR/FGF15 蛋白表达水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 模型组大鼠 FXR、FGF15 蛋白表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 维生素 D 组 FXR、FGF15 蛋白表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与维生素 D 组相比, 维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠 FXR、FGF15 蛋白表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 7 及图 7。

表 4 各组大鼠炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	MCP-1	IL-6	IL-1 β	TNF- α
对照组($n=10$)	375.25 \pm 48.03	72.85 \pm 8.61	221.54 \pm 32.19	168.55 \pm 24.08
模型组($n=9$)	514.78 \pm 60.11 ^①	154.63 \pm 26.33 ^①	327.78 \pm 43.05 ^①	274.56 \pm 36.96 ^①
维生素 D 组($n=9$)	406.45 \pm 50.05 ^{①②}	85.14 \pm 9.47 ^{①②}	266.14 \pm 35.26 ^{①②}	201.25 \pm 31.44 ^{①②}
维生素 D+FXR 抑制剂组($n=9$)	479.33 \pm 58.03 ^{①②③}	120.37 \pm 21.58 ^{①②③}	292.56 \pm 39.00 ^{①②③}	231.07 \pm 34.58 ^{①②③}
F 值	9.838	27.725	9.791	10.231
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

① $P<0.05$,与对照组比较;② $P<0.05$,与模型组比较;③ $P<0.05$,与维生素 D 组比较。

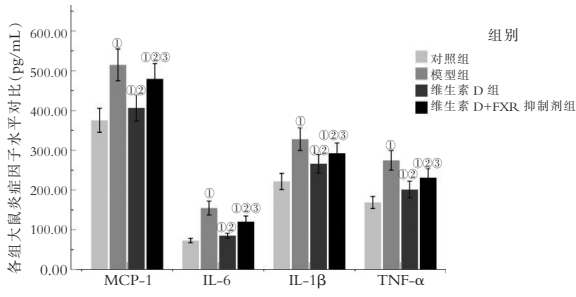


图 4 各组大鼠炎症因子水平比较

① $P<0.05$,与对照组比较;② $P<0.05$,与模型组比较;③ $P<0.05$,与维生素 D 组比较。

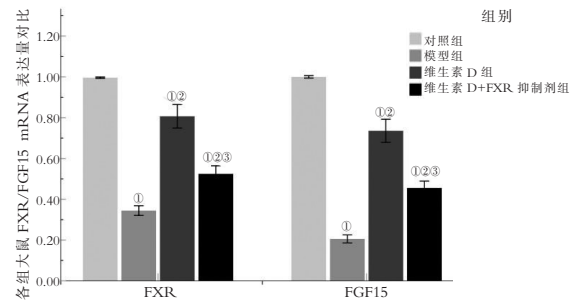


图 6 各组大鼠 FXR/FGF15 mRNA 表达水平比较

① $P<0.05$,与对照组比较;② $P<0.05$,与模型组比较;③ $P<0.05$,与维生素 D 组比较。

表 5 各组大鼠自噬相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	P62	LAMP1	LC3- II / I
对照组($n=10$)	1.12 \pm 0.24	1.03 \pm 0.21	2.67 \pm 0.35
模型组($n=9$)	2.79 \pm 0.36 ^①	0.28 \pm 0.03 ^①	0.74 \pm 0.08 ^①
维生素 D 组($n=9$)	1.65 \pm 0.27 ^{①②}	0.85 \pm 0.09 ^{①②}	2.23 \pm 0.34 ^{①②}
维生素 D+FXR 抑制剂组($n=9$)	2.03 \pm 0.31 ^{①②③}	0.64 \pm 0.07 ^{①②③}	1.97 \pm 0.39 ^{①②③}
F 值	26.614	17.983	9.220
P 值	<0.05	<0.05	<0.05

① $P<0.05$,与对照组比较;② $P<0.05$,与模型组比较;③ $P<0.05$,与维生素 D 组比较。

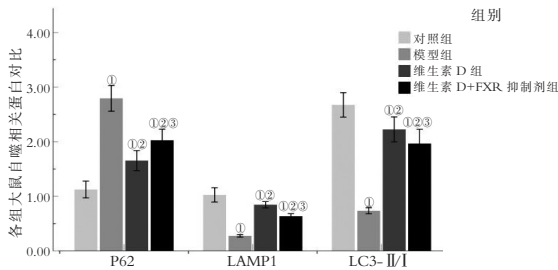


图 5 各组大鼠自噬相关蛋白表达水平比较

① $P<0.05$,与对照组比较;② $P<0.05$,与模型组比较;③ $P<0.05$,与维生素 D 组比较。

表 6 各组大鼠 FXR/FGF15 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	FXR	FGF15
对照组($n=10$)	1.00 \pm 0.01	1.00 \pm 0.01
模型组($n=9$)	0.34 \pm 0.04 ^①	0.21 \pm 0.03 ^①
维生素 D 组($n=9$)	0.81 \pm 0.09 ^{①②}	0.74 \pm 0.08 ^{①②}
维生素 D+FXR 抑制剂组($n=9$)	0.52 \pm 0.06 ^{①②③}	0.46 \pm 0.05 ^{①②③}
F 值	145.489	239.489
P 值	<0.05	<0.05

① $P<0.05$,与对照组比较;② $P<0.05$,与模型组比较;③ $P<0.05$,与维生素 D 组比较。

表 7 各组大鼠 FXR/FGF15 蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	FXR	FGF15
对照组($n=10$)	1.00 \pm 0.01	1.00 \pm 0.01
模型组($n=9$)	0.41 \pm 0.05 ^①	0.35 \pm 0.04 ^①
维生素 D 组($n=9$)	0.88 \pm 0.09 ^{①②}	0.79 \pm 0.08 ^{①②}
维生素 D+FXR 抑制剂组($n=9$)	0.70 \pm 0.08 ^{①②③}	0.55 \pm 0.06 ^{①②③}
F 值	45.905	148.219
P 值	<0.05	<0.05

① $P<0.05$,与对照组比较;② $P<0.05$,与模型组比较;③ $P<0.05$,与维生素 D 组比较。

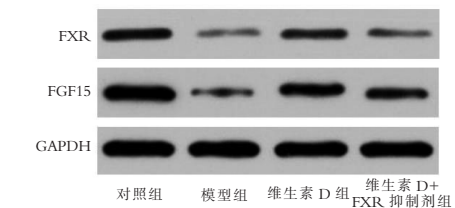
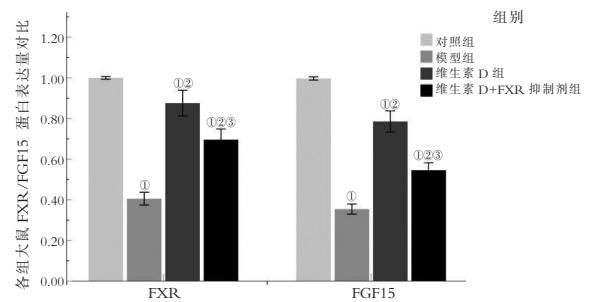


图 7 各组大鼠 FXR/FGF15 蛋白表达水平比较

① $P<0.05$,与对照组比较;② $P<0.05$,与模型组比较;③ $P<0.05$,与维生素 D 组比较。

3 讨论

本研究结果显示,与对照组比较,模型组大鼠空腹血糖升高($P < 0.05$);胰岛素水平及体质量降低($P < 0.05$),与临床 2 型糖尿病特征相符。经维生素 D 治疗后,维生素 D 组大鼠空腹血糖较模型组降低($P < 0.05$);胰岛素水平升高($P < 0.05$);体质量增加($P < 0.05$),表明维生素 D 能有效改善糖尿病大鼠的糖代谢紊乱,增强胰岛素敏感性,促进机体对葡萄糖的摄取和利用,从而降低血糖水平,同时可能通过调节能量代谢相关途径,改善机体营养状态,增加体质量^[7-8]。本研究未检测胰岛素抵抗指数及进行胰岛素耐量试验,后续研究可补充该部分实验以更全面验证维生素 D 对胰岛素敏感性的影响。而维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠与维生素 D 组比较,空腹血糖升高($P < 0.05$);胰岛素水平和体质量降低($P < 0.05$),提示 FXR 抑制剂在一定程度上阻断了维生素 D 对糖代谢及体质量的改善作用,说明 FXR/FGF15 信号通路可能参与了维生素 D 调节糖代谢和体质量的过程。

本研究中,模型组大鼠血清 Scr 和 BUN 水平高于对照组($P < 0.05$),结合病理组织学观察,模型组大鼠肾组织可见肾小球肥大、系膜细胞增生及肾小管上皮细胞损伤,表明糖尿可引起肾功能损伤。维生素 D 组大鼠血清 Scr 和 BUN 水平较模型组降低($P < 0.05$),且肾组织病理损伤明显减轻,表明维生素 D 对糖尿病引起的肾功能损伤具有保护作用。分析其原因可能是由于维生素 D 改善了机体的代谢紊乱,减少了高血糖等因素对肾脏的损伤。此外,维生素 D 还可能通过调节炎症反应、氧化应激等途径,减轻肾脏的病理损伤^[9-10]。而维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠血清 Scr 和 BUN 水平高于维生素 D 组($P < 0.05$),肾组织病理损伤较维生素 D 组加重,再次说明 FXR/FGF15 信号通路在维生素 D 保护肾功能过程中发挥着重要作用,抑制 FXR 可能削弱了维生素 D 对肾脏的保护效果。

炎症在 2 型糖尿病及其并发症的发展中起着关键作用。本研究中,模型组大鼠血清 MCP-1、IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子水平高于对照组($P < 0.05$),表明糖尿病状态下机体处于慢性炎症状态。维生素 D 组大鼠炎症因子水平较模型组降低($P < 0.05$),提示维生素 D 具有抗炎作用。分析其原因可能是维生素 D 可能通过抑制炎症细胞的活化、减少炎症介质的释放等方式,减轻炎症反应。具体来说,维生素 D 可能作用于免疫细胞表面的维生素 D 受体,调节相关信号通路,抑制炎症因子基因的转录

和表达^[11-12]。而维生素 D+FXR 抑制剂组大鼠炎症因子水平高于维生素 D 组($P < 0.05$),表明 FXR/FGF15 信号通路与维生素 D 的抗炎作用存在关联,FXR 可能参与调节维生素 D 介导的抗炎反应。

自噬是细胞维持内环境稳态的重要机制。本研究对自噬活性作为维生素 D 改善肾脏功能的关键机制进行了探讨。自噬活性属于机制而非表型,表型是可观察到的生物学特征(如肾功能指标异常、肾组织病理改变等),而自噬活性是细胞内部通过降解受损成分以维持稳态的动态过程,是介导维生素 D 发挥肾脏保护作用的内在调控方式^[13-14]。模型组大鼠肾组织 P62 蛋白表达升高($P < 0.05$);LAMP1、LC3-II / I 蛋白表达降低($P < 0.05$),说明糖尿病状态下自噬活性受到抑制,导致细胞内代谢产物堆积。选择上述指标的原因在于^[15-17]:(1) P62 是自噬降解的特异性底物,当自噬活性减弱时,P62 无法被正常清除而在细胞内积累,其表达水平升高可直接反映自噬清除功能受损;(2) LAMP1 是溶酶体膜上的标志性蛋白,参与自噬溶酶体的形成与功能维持,其表达降低提示自噬溶酶体的组装或功能出现障碍,影响自噬的最终完成;(3) LC3 是自噬过程中的关键蛋白,胞质中可溶性的 LC3-I 会在自噬启动后与磷脂酰乙醇胺结合转化为膜结合型的 LC3-II,LC3-II / I 比值升高是自噬启动及活性增强的经典标志,该比值降低则表明自噬启动受到抑制。维生素 D 组大鼠肾组织 P62 蛋白表达降低($P < 0.05$);LAMP1、LC3-II / I 蛋白表达升高($P < 0.05$),表明维生素 D 能够激活自噬活性。自噬活性的恢复有助于清除细胞内受损的细胞器和蛋白质聚集,减轻氧化应激和炎症反应,从而保护细胞功能。分析原因是维生素 D 可能通过调节相关信号通路,如 mTOR 信号通路等,来激活自噬^[18-19]。维生素 D+FXR 抑制剂组自噬相关蛋白表达介于模型组和维生素 D 组之间,说明 FXR/FGF15 信号通路可能参与调节维生素 D 对自噬活性的影响,FXR 可能与自噬相关信号通路存在交叉对话。

从基因和蛋白表达水平来看,模型组肾组织 FXR、FGF15 mRNA 和蛋白表达水平均低于对照组($P < 0.05$),表明糖尿病状态下 FXR/FGF15 信号通路受到抑制。维生素 D 组大鼠 FXR、FGF15 mRNA 和蛋白表达水平较模型组升高($P < 0.05$),提示维生素 D 能够激活 FXR/FGF15 信号通路。FXR/FGF15 信号通路在脂质代谢、胆汁酸稳态及糖代谢等方面发挥重要作用,其激活可能通过多种途径改善糖尿病大鼠的代谢紊乱。FXR 激活后可

调节下游靶基因的表达,促进脂质代谢和胆汁酸的合成与排泄,改善胰岛素抵抗,进而降低血糖水平^[20]。维生素 D + FXR 抑制剂组 FXR、FGF15 mRNA 和蛋白表达水平低于维生素 D 组 ($P < 0.05$),直接证实了 FXR 抑制剂对维生素 D 激活 FXR/FGF15 信号通路的阻断作用。

综上,维生素 D 可改善肾功能,作用机制可能与调节自噬活性和 FXR/FGF15 通路有关。

参考文献

- [1] Kanaley JA, Colberg SR, Corcoran MH, *et al.* Exercise/physical activity in individuals with type 2 diabetes: a consensus statement from the American college of sports medicine[J]. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2022, 54(2): 353-368.
- [2] Dou Z, Xia Y, Zhang J, *et al.* Syndrome differentiation and treatment regularity in traditional Chinese medicine for type 2 diabetes: a text mining analysis [J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2021, 12:728032.
- [3] 何阶德,梁航,黄滕,等.血清 C 肽、自噬关键分子 Atg6 同系物、纤维胶凝蛋白 3 在 2 型糖尿病肾病患者中的表达变化及其预测价值研究[J]. *陕西医学杂志*, 2024, 53(3): 327-330.
- [4] 钱婷婷,李欣,马金玲,等.基于 FXR/FGF15 信号通路的益气活血通络方对 2 型糖尿病小鼠糖脂代谢的影响[J]. *长春中医药大学学报*, 2020, 36(2): 265-267.
- [5] 郭旗,张濛,张舜.激活细胞自噬对 2 型糖尿病大鼠骨折愈合的作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2025, 42(2): 300-303.
- [6] 汪乐,田春洋,王荣会,等.半枝莲醇提液对 2 型糖尿病大鼠 HPA 轴的结构损伤、糖原沉积及相关递质表达的改善作用[J]. *四川农业大学学报*, 2024, 42(4): 899-907.
- [7] Saberi S, Askaripour M, Khaksari M, *et al.* Exercise training improves diabetic renal injury by reducing fetuin-A, oxidative stress and inflammation in type 2 diabetic rats[J]. *Heliyon*, 2024, 10(6): e27749.
- [8] Zhou F, Guo Y, Chen N. Exercise promotes irisin expression to ameliorate renal injury in type 2 diabetic rats[J]. *Nan Fang Yi Ke da Xue Xue Bao*, 2024, 44(4): 675-681.
- [9] Thomsen MN, Skytte MJ, Samkani A, *et al.* Dietary carbohydrate restriction augments weight loss-induced improvements

in glycaemic control and liver fat in individuals with type 2 diabetes: a randomised controlled trial[J]. *Diabetologia*, 2022, 65(3): 506-517.

- [10] Yang R, Chen J, Jia Q, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate ameliorates renal endoplasmic reticulum stress-mediated inflammation in type 2 diabetic rats[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2022, 247(16): 1410-1419.
- [11] Huo JY, Hou C, Li XL, *et al.* Renal denervation ameliorates atrial remodeling in type 2 diabetic rats by regulating mitochondrial dynamics[J]. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 2024, 80(4): 935-948.
- [12] Aghahoseini F, Alihemmati A, Hosseini L, *et al.* Vildagliptin ameliorates renal injury in type 2 diabetic rats by suppressing oxidative stress[J]. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 2020, 19(2): 701-707.
- [13] 王雅雯,程亚楠,杨宾,等.雷帕霉素上调人脐静脉内皮细胞自噬活性抑制细胞增殖[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(4): 605-610.
- [14] 解静,张晓伟,花芳,等.自噬活性物质筛选系统研究进展[J]. *药学报*, 2016, 51(1): 52-58.
- [15] Hua F, Hu ZW. TRIB3-P62 interaction, diabetes and autophagy[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(33): 34061-34062.
- [16] Tian Y, Song W, Xu D, *et al.* Autophagy induced by ROS aggravates testis oxidative damage in diabetes via breaking the feedforward loop linking p62 and Nrf2[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 2020: 7156579.
- [17] Muralidharan C, Conteh AM, Marasco MR, *et al.* Pancreatic beta cell autophagy is impaired in type 1 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2021, 64(4): 865-877.
- [18] 厚荣荣,孔颖,高雷,等.维生素 D 通过哺乳动物 STE20 样激酶 1-核因子 E2 相关因子 2 通路调控自噬抑制缺氧/复氧诱导的糖尿病心肌细胞损伤的研究[J]. *中国糖尿病杂志*, 2023, 31(10): 777-782.
- [19] 朱佳栋,王星霞.维生素 D 联合硫酸镁与胰激肽释放酶对重症子痫前期患者胎盘滋养细胞自噬和母婴结局的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2025, 40(7): 1165-1169.
- [20] Wang KX, Liang FX, Wu S, *et al.* Electroacupuncture preconditioning alleviates renal injury and oxidative stress through Sirt3/MnSOD pathway in type 2 diabetic rats[J]. *Zhen Ci Yan Jiu*, 2022, 47(9): 793-800.

(收稿日期:2025-05-20

修回日期:2025-09-28)